

한국 약용 및 식용식물들의 항산화성 식물탐색

정일민* · 김광호* · 안종국*

Screening of Korean Medicinal and Food Plants with Antioxidant Activity

Ill Min Chung*, Kwang Ho Kim* and Joung Kuk Ahn*

ABSTRACT : Sixty medicinal and food plants native to Korea were mainly selected with old traditional habit and antioxidant activity was investigated. The 80% EtOH extracts of sixty medicinal and food plants were screened for antioxidant activity. Antioxidant activity was measured by the TBA (Thiobarbituric acid), DPPH (1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl), SOD (superoxide dismutase) which was evaluated by the nitro blue tetrazolium (NBT) reduction method. Among sixty plants, black *Glycine max* (87.3%) and *Solanum nigrum* (80.6%) exhibited the highest antioxidant activity by TBA and DPPH methods, respectively. Also, 10 species extracts including black *Glycine max* showed the high activity value in these two methods. The SOD characteristics on black *Glycine max* seed extracts which showed the highest SOD activity (53.5%) exhibited four major SODs; two Cu/ZnSODs and two FeSODs. However, *Adenophaora verticillata* which showed lowest SOD value (10.4%) had only Cu/Zn SOD. No varietal differences in the high SOD value were detected in the Cu/Zn SOD isozyme patterns.

Key words : native plants, antioxidant activity, TBA, DPPH, SOD.

서 론

우리 나라의 산야에는 이용 가능한 약용식물이 약 900여종 분포하고 있는 것으로 알려져 있으며 이중 60여종은 농가에서 재배 생산되고 있으므로 WTO체제 출범에 따른 국제 경쟁력에서 우위를 차지할 수 있는 품목의 하나인 약용식물이 수출 지향형 작물로 분류되어 농가 소득 향상 작물로서 유망시 되고 있다. 그러나 농업분야의 생리활성물질 탐구활용면에서는 아직 시작단계에 불과하며 최근의

신물질 탐색 연구는 천연물로부터라는 인식이 보편화되면서 과학기술처의 G7 선도기술사업의 한 분야로 약용작물에 대한 활성연구가 활발하게 진행되고 있다(이 등, 1991). 따라서 약용작물을 생약으로 직접 이용하기보다는 이들 식물이 함유하고 있는 활성물질을 탐색하여 신물질을 개발하게 된다면 앞으로 약용식물의 이용가치는 더욱더 높아지게 될 것이다.

항산화활성으로서는 지질과산화 저해활성을 조사하는데, 호기적 유기체의 생명 유지에 필수적인 산소가 생명체 내에서 활성화되어 과산화(O²⁻,

* 건국대학교 농업생명과학대학 (College of Agriculture and Life Science, KonKuk University, Seoul, 143-701, Korea) < '98. 10. 9 접수 >

재료 및 방법

superoxide)로 전환된 후 superoxide는 다시 H_2O_2 , hydroxy radical ($\cdot OH$), 1O_2 (singlet oxygen)로 변하고, 이들 활성산소는 생체막의 지질을 과산화시켜 생체막을 변질시킴으로써 활성산소의 연쇄반응으로 효소 불활성, 세포노화, 동맥경화, 당뇨병, 뇌졸중, 암 등 질병을 유발한다고 보고되었다 (Chance et al., 1979; Hammond et al., 1985). 따라서 생체내 자유라디칼 (free radical)의 생성을 억제하는 것이 질병예방을 위한 중요한 과제로 되고 있다. 특히 노화억제에 대한 연구는 삶의 질과 장수를 추구하는 현대인들의 욕구에 부응하여 많은 흥미를 유발하여 왔다. 이러한 추세에 따라 노화억제에 대한 연구의 일환으로 생체내 자유 라디칼 (free radical)의 생성을 억제하는 항산화 활성물질에 대한 연구가 수행되었다 (Simic & Karel, 1980).

따라서 본 연구에서는 우리 나라에서 자생하며 한방약으로 사용되는 약용식물 및 오랜 기간동안 식용으로 해왔던 식용작물 중 약용으로 사용되는 작물등 60종을 이용하여 여러 가지 항산화 활성 검정법을 통해 활성정도를 평가 조사한 후 활성정도가 강한 작물을 선발하여 미래의 천연항산화제 및 의약품으로의 이용 가능성을 평가 하고자 본 실험을 실시하였다.

본 실험에 사용된 항산화성 활성검정재료는 국내 자생약용식물과 우리가 오랜 기간동안 식용으로 해왔던 것들 중 약용으로 사용되는 식물들로 Table 1과 같이 공시하였다. 이들 시료는 주로 채취 또는 한약재상에서 구입하였고, 이물질을 제거한 후 진공동결건조기 (FTS system Inc., U.S.A)에서 건조, 분쇄 (40-mesh)하여 냉동실 (-20°C)에 보관하면서 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 재료들의 추출수율의 측정은 80% EtOH을 이용하여 시료의 건물 1g에 대한 추출물의 총soluble solid함량의 백분비로 표시하였다 (Table 2).

분쇄된 각 시료를 공시시료별로 5g씩 채취하여 80% EtOH 100ml로 처리하여 2일간 실온에서 추출하고 20ml로 농축한 후 이 농축액을 적절한 비율로 희석하여 항산화활성 분석용 시료로 사용하였다.

흰쥐의 간으로부터 microsomes의 분리는 김 등 (1990)의 방법에 따라 수행 하였다. Microsome분획은 adult sprague-dawley rat (200-250g)에서 적출된 간을 사용하였다. 간 조직을 절단하여 잘게 자른 후, Fig. 1과 같은 방법으로 간을 0.25M sucrose 용액으로 세척하여 4배 용량의 냉각된 Tris-HCl buffer (150 mM KCl, 50 mM Tris-HCl,

Table 1. List of plants tested for antioxidant activity in this experiment.

Scientific name	Korean name	Class	Plant parts
<i>Achyranthes bidentata</i>	우슬	Amaranthaceae (비름과)	roots
<i>Adenophora verticillata</i>	잔대	Campanulaceae (도라지과)	leaves
<i>Akebia quinata</i>	으름덩굴	Lardizabalaceae (으름과)	stems
<i>Allium odorum</i>	부추	Liliaceae (나리과)	leaves
<i>Amaranthus mangostanus</i>	비름	Amaranthaceae (비름과)	leaves
<i>Aralia continentalis</i>	독활	Araliaceae (두릅과)	stems
<i>Aralia elataseemann</i>	두릅	Araliaceae (오갈피과)	leaves
<i>Artemisia asiatica</i>	쑥	Compositae (국화과)	leaves
<i>Aster tataricus</i>	취나물	Compositae (국화과)	leaves
<i>Atractylodes japonica</i>	삼주	Compositae (국화과)	leaves
<i>Beta vulgaris</i>	비트	Chenopodiaceae (명아주과)	roots
<i>Brassica oleracea</i>	케일	Brassicaceae (십자화과)	leaves
<i>Carthamus tinctorius</i>	잇꽃	Compositae (국화과)	flowers
<i>Cassia tora</i>	결명자	Leguminosae (콩과)	seeds
<i>Chenopodium album</i>	명아주	Chenopodiaceae (명아주과)	leaves
<i>Chrysanthemum coronarium</i>	쑥갓	Compositae (국화과)	leaves

(continued)

(Table 1. Continued)

<i>Citrullus vulgaris</i>	수박	Cucurbitaceae (박과)	seeds
<i>Codonopsis pilosula</i>	만삼	Campanulaceae (초롱꽃과)	roots
<i>Coix lachryma-jobi</i> var. mayuen	율무	Gramineae (화본과)	seeds
<i>Cucurbita moschata</i>	호박잎	Cucurbitaceae (박과)	leaves
<i>Epimedium koreanum</i>	음양곽	Berberidaceae (매자나무과)	leaves
<i>Erigeron canadensis</i>	망초	Compositae (국화과)	leaves
<i>Euonymus alatas</i>	화살나무	Celatraceae (노박덩굴과)	stems
<i>Fagopyrum esculentum</i>	메밀	Polygonaceae (여뀌과)	seeds
<i>Glycine max</i> (black)	검정콩	Leguminosae (콩과)	seeds
<i>Glycine max</i> (blue)	푸른콩	Leguminosae (콩과)	seeds
<i>Ixeris dentata</i>	씀바귀	Compositae (국화과)	leaves
<i>Lactuca raddeana</i>	상추	Compositae (국화과)	leaves
<i>Leonurus sibiricus</i>	익모초	Labiatae (꿀풀과)	leaves
<i>Lycium chinensis</i>	지골피	Solanaceae (가지과)	stems
<i>Medicago sativa</i>	알팔파	Leguminosae (콩과)	leaves
<i>Mentha arvensis</i>	박하	Labiatae (순형과)	leaves
<i>Monochoria vaginalis</i>	물달개비	Pontederiaceae (물옥잠과)	flowers
<i>Morus alba</i>	뽕잎	Moraceae (뽕과)	leaves
<i>Oenanthe stolonifera</i>	미나리	Umbelliferae (미나리과)	leaves
<i>Oenothera odorata</i>	달맞이꽃	Onagraceae (바늘꽃과)	leaves
<i>Oryza sativa</i> (black)	흑미	Gramineae (화본과)	seeds
<i>Oryza sativa</i> (japonica)	적미	Gramineae (화본과)	seeds
<i>Oryza sativa</i> (red)	적미	Gramineae (화본과)	seeds
<i>Oryza sativa</i> (waxy)	찰벼	Gramineae (화본과)	seeds
<i>Perilla frutescens</i> (Hara)	들깨	Labiatae (꿀풀과)	seeds
<i>Perilla frutescens</i> (Kudo)	자소	Labiatae (꿀풀변형과)	leaves
<i>Phaseolus vulgaris</i>	강남콩	Leguminosae (콩과)	seeds
<i>Pinus densiflora</i>	솔잎	Pinaceae (소나무과)	leaves
<i>Pisum sativum</i>	완두	Leguminosae (콩과)	seeds
<i>Polygonatum japonicum</i>	동굴레	Liliaceae (나리과 : 백합과)	roots
<i>Portulaca oleracea</i>	쇠비름	Portulacaceae (쇠비름과)	leaves
<i>Prunus persica</i>	복숭아	Rosaceae (장미과)	seeds
<i>Pueraria thunbergiana</i>	취	Leguminosae (콩과)	root
<i>Raphanus sativus</i>	무	Brassicaceae (십자화과)	bulb
<i>Rumex japonica</i>	소루쟁이	Polygonaceae (여뀌과)	root
<i>Saururus chinensis</i>	삼백초	Saururaceae (삼백초과)	leaves
<i>Solanum melongena</i>	가지	Solanaceae (가지과)	fruits
<i>Solanum nigrum</i>	까마중	Solanaceae (가지과)	fruits
<i>Taraxacum plarycarpum</i>	민들레	Compositae (국화과)	leaves
<i>Taxus baccata</i>	주목	Taxaceae (비자과)	stems
<i>Ulmus davidiana</i>	느릅나무	Ulmaceae (느릅나무과)	stems
<i>Vigna angularis</i>	팥	Leguminosae (콩과)	seeds
<i>Vigna radiata</i>	녹두	Leguminosae (콩과)	seeds
<i>Vitis vinifera</i>	포도	Vitaceae (포도과)	seeds

pH 7.4) 에 넣어 균질화한 후 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻어진 상등액을 사용하였다. 이 상등액을 10,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 균질화되지 않은 조직, 절편 및 mitochondria를 제거한

후, 다시 상등액을 취하고 30,000 rpm 1시간 원심분리하여 소량의 pellet를 얻었다. 이 pellet를 Tris-HCl buffer (150 mM KCl, 50 mM Tris-HCl, pH 7.4) 에 단백질 농도가 20mg protein/ml 가 되도록

Table 2. Extraction yield of each tested plant by 80% EtOH.

Scientific names	Yield (%)			
	1st	2nd	3rd	Total
<i>Achyranthes bidentata</i>	11.563	4.839	0.177	16.579
<i>Adenophora verticillata</i>	8.406	0.806	0.417	9.629
<i>Akebia quinata</i>	7.683	0.788	0.899	9.370
<i>Allium odorum</i>	28.770	3.307	6.918	38.995
<i>Amaranthus mangostanus</i>	11.454	1.128	0.867	13.449
<i>Aralia continentalis</i>	9.919	1.070	1.682	12.671
<i>Aralia elataseemann</i>	17.086	4.029	3.989	25.104
<i>Artemisia asiatica</i>	7.113	0.739	0.923	8.775
<i>Aster tataricus</i>	9.851	3.925	0.452	14.228
<i>Atractylodes japonica</i>	4.398	0.438	0.379	5.215
<i>Beta vulgaris</i>	30.031	2.781	0.510	33.322
<i>Brassica oleracea</i>	15.503	4.044	2.687	22.234
<i>Carthamus tinctorius</i>	18.082	1.874	2.299	22.255
<i>Cassia tora</i>	10.661	4.672	0.893	16.226
<i>Chenopodium album</i>	24.466	3.741	3.654	31.861
<i>Chrysanthemum coronarium</i>	21.073	3.257	0.308	24.638
<i>Citrullus vulgaris</i>	0.624	0.822	0.572	2.018
<i>Codonopsis pilosula</i>	9.581	1.368	4.968	15.917
<i>Coix lachryma-jobi var. mayuen</i>	0.783	0.345	0.105	1.233
<i>Cucurbita moschata</i>	14.692	3.735	2.542	20.969
<i>Epimedium koreanum</i>	7.206	0.733	0.778	8.717
<i>Erigeron canadensis</i>	15.324	4.605	3.220	23.149
<i>Euonymus alatas</i>	0.896	0.107	0.258	1.261
<i>Fagopyrum esculentum</i>	0.548	0.914	0.114	1.576
<i>Glycine max</i> (black)	10.854	3.752	0.489	15.095
<i>Glycine max</i> (blue)	13.647	1.345	0.675	15.667
<i>Ixeris dentata</i>	19.242	6.113	3.881	29.236
<i>Lactuca raddeana</i>	17.596	1.843	2.437	21.876
<i>Leonurus sibiricus</i>	3.041	0.322	0.457	3.820
<i>Lycium chinensis</i>	3.440	0.400	0.868	4.708
<i>Medicago sativa</i>	14.400	4.416	2.152	20.968
<i>Mentha arvensis</i>	11.235	2.288	1.216	14.739
<i>Monochoria vaginalis</i>	6.542	2.084	2.235	10.861
<i>Morus alba</i>	12.563	2.141	4.565	19.269
<i>Oenanthe stolonifera</i>	22.653	2.176	1.167	25.996
<i>Oenothera odorata</i>	21.946	8.093	6.761	36.800
<i>Oryza sativa</i> (black)	7.308	0.873	0.879	9.060
<i>Oryza sativa</i> (japonica)	7.650	0.854	0.897	9.401
<i>Oryza sativa</i> (red)	6.836	0.878	0.987	8.701

(continued)

(Table 2. Continued)

<i>Oryza sativa</i> (waxy)	6.824	0.657	1.364	8.845
<i>Perilla frutescens</i> (Hara)	12.458	1.465	0.943	14.866
<i>Perilla frutescens</i> (Kudo)	16.311	4.724	1.570	22.605
<i>Phaseolus vulgaris</i>	11.972	1.429	0.872	14.273
<i>Pinus densiflora</i>	9.036	1.455	6.340	16.831
<i>Pisum sativum</i>	0.987	0.997	2.614	4.598
<i>Polygonatum japonicum</i>	0.588	0.071	0.175	0.834
<i>Portulaca oleracea</i>	4.581	0.519	1.026	6.126
<i>Prunus persica</i>	1.823	0.603	0.638	3.064
<i>Pueraria thunbergiana</i>	7.130	0.899	2.507	10.536
<i>Raphanus sativus</i>	0.151	0.015	0.098	0.264
<i>Rumex japonica</i>	6.926	0.766	1.361	9.053
<i>Saururus chinensis</i>	2.515	0.294	0.654	3.463
<i>Solanum melongena</i>	23.357	2.165	0.413	25.935
<i>Solanum nigrum</i>	32.039	3.514	1.589	37.142
<i>Taraxacum plarycarpum</i>	14.019	1.697	4.229	19.945
<i>Taxus baccata</i>	12.873	5.496	1.959	20.328
<i>Ulmus davidiana</i>	12.729	1.249	0.915	14.893
<i>Vigna angularis</i>	10.987	1.246	1.578	13.811
<i>Vigna radiata</i>	11.667	6.429	0.978	19.074
<i>Vitis vinifera</i>	0.526	4.204	1.375	6.105

suspension 시킨 후 -70°C 에 보관하였으며, 사용시에는 4°C 에 녹여 사용하였다.

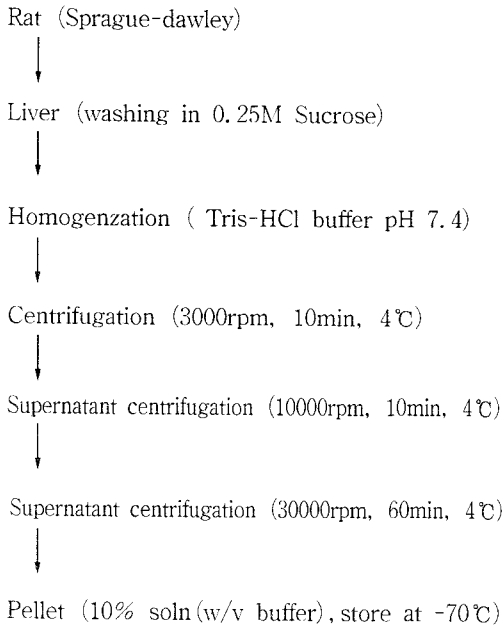


Fig. 1. Preparation procedure of microsomal fraction from rat liver.

Thiobarbituric acid (TBA)법에 의한 항산화 활성 조사는 지질과산화 저해활성 검정법으로는 Wong등(1981)의 방법에 따라 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.5) 1ml, microsome분획 100 μ l, 2mM ascorbate 100 μ l, 0.2mM FeSO₄ 100 μ l, 증류수 600 μ l 및 검체시료 100 μ l를 첨가하여 총량 2ml로 하였다. 이 반응액 2ml을 Bidlack 등(1973)의 방법에 따라 잘 혼합하여 37°C 에서 1시간 동안 반응시켜 지질과산화를 유도하고, 3 M-trichloroacetic acid와 2.5 N-HCl의 혼합용액 0.5ml을 첨가하여 반응을 중지시킨 후, 1,000 rpm으로 10분간 원심 분리하였다. 이 상등액 1ml을 취하여 0.67% TBA (thiobarbituric acid) 0.5ml를 첨가하여 끓는 물에 20분간 가열하여 발색시켰다. 냉각 후 533nm에서 흡광도를 측정하였다. 지질과산화 억제율은 대조군의 흡광도에 대한 저해율(%)로 비교하였다.

1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)에 의한 항산화 활성 조사는 Yoshida등(1989)의 방법에 따라 측정하였다. 1ml DPPH용액 (0.35 mM DPPH Sol. in MeOH)과 검체시료를 vortex로 균일하게 혼합한 다음 실온에서 10분간 방치한 후 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 지질과산화 억제율은 대조군의 흡광도에 대한 저해율(%)로 비교하였다.

SOD (Superoxide dismutase) 법에 의한 활성 측정은 TBA법과 DPPH법에서 활성정도가 높은 식물과 낮은 식물 중 잔대 (*Adenophora verticillata*) 의 25종의 식물에 대해서 NBT (Nitro Blue Tetrazolium) 환원법을 이용하여 SOD활성을 검정하였다 (Beyer & Fridovich, 1987). 반응용액이 들어 있는 시험관을 25°C의 온도 및 광 조절 식물 성장상의 광원에 7분간 균일하게 조사시킨 후, 분광광도계를 이용하여 560nm에서 용액의 흡광도를 측정하였다. SOD활성정도는 NBT 환원저해율로 표시하였다 (Asada, et al., 1974).

효소의 추출

SOD활성 검정에서 활성이 높은 시료를 SOD동위효소 분석용 시료로 사용하였다. 마쇄된 시료 1g과 효소추출 완충용액 (pH 7.0, 100 mM phosphate, 10 mM ascorbate, 5 mM EDTA) 5ml를 유발에 넣은 후 곁게 갈아서 얻은 조추출액을 15,000rpm으로 10분간 1회 원심분리하였다. 원심분리하여 얻은 상등액을 탈염완충용액 (50 mM phosphate, pH 7.0, 0.2 mM EDTA)으로 평형시킨 후 Sephadex G-25 column을 이용하여 탈염 후 효소활성 검정용액으로 사용하였다. 효소용액중의 단백질 함량은 Bradford법을 이용하여 측정하였다 (Bradford, 1976).

SOD활성 염색과 동위효소 식물

Bollag & Edelstein (1991)의 Native discontinuous polyacrylamide gel을 이용하여 효소용액의 단백질을 분리하였다. 농축겔과 분리겔의 acrylamide 농도는 각각 5%와 10 - 15%였다. 전기영동 완충용액은 12.5 mM Tris, 95 mM glycine, pH 8.8을 사용하였으며 전기영동 전압과 시간은 분리겔의 acrylamide농도에 따라 조절하였다. 전기영동 후 겔내 SOD활성 band는 negative 염색법을 사용하여 검출하였다. 분리겔을 50 mM potassium phosphate, pH 7.0, 0.625 mM NBT-2HCl 과 50 mM potassium phosphate, pH 7.0, 0.1 mM EDTA, 30 mM L-methionine, 3 mM riboflavin에 30분과 20분씩 각각 침지시킨 후, 겔을 랩에 싸서 겔에 뚜렷한 효소활성 band가 나타날 때까지 효소활성측정에 사용한 식물 성장상 내의 광원에 30-60분 동안 반응시켰으며, 금속조효소 중

류에 따른 SOD의 종류는 KCN과 H₂O₂에 대한 반응특성에 따라 분류하였다. SOD 활성저해제는 활성염색용액에 겔을 침지하기 전에 첨가하였다.

위의 모든 활성검정은 완전임의 배치법 3반복으로 하였고 통계분석은 SAS (statistical analysis system)을 이용하여 최소유의차 (LSD)를 검정하였다 (SAS Institute, 1985).

결과 및 고찰

1. TBA법과 DPPH법에 의한 항산화 활성검정

본 실험에 사용된 식물체들의 추출수율을 보면 부추의 추출물이 39%로 가장 높고, 등글레와 무우 추출물은 1%로 가장 낮은 결과를 보이고 있다 (Table 2).

본 실험에서는 가장 널리 사용되는 방법중 TBA법과 DPPH법을 이용하여 항산화활성을 검정하였다. 60종에 대한 80% EtOH 추출액의 항산화 효과를 검정한 결과는 Table 3과 같다.

TBA법과 DPPH법에 따라 조사한 1차 활성검정 결과 본 실험에 사용된 60종의 식물 추출액 모두가 처리방법에 따라 지질과산화 억제율에 차이는 있으나 항산화 활성은 가지고 있는 것으로 확인되었다. TBA법 처리시에는 전체적인 변이계수 (CV)는 6.58%이며 검정공의 추출액이 87.3%로서 60종의 식물 추출액중에서 가장 높은 활성을 보였고, 푸른콩, 취나물, 팔, 결명자, 박하, 매밀, 달맞이꽃, 썩갓, 우슬, 뽕잎, 독활, 포도, 복숭아, 칩, 쇠비름, 무, 상추, 썩, 주목, 음양곽, 삼백초 추출액 순으로 활성을 보였으며 DPPH법에서는 (변이계수=8.

Table 3. Antioxidant activity test of sixty plants by 80% EtOH extracts.

Scientific names	Antioxidants (10mg/ml)	
	TBA	DPPH
<i>Achyranthes bidentata</i>	82.65	46.16
<i>Adenophora verticillata</i>	5.15	11.67
<i>Akebia quinata</i>	54.95	55.34
<i>Allium odorum</i>	64.80	24.04
<i>Amaranthus</i>	64.95	43.38
<i>Aralia continentalis</i>	62.45	28.33
<i>Aralia elataseemann</i>	82.40	67.26
<i>Artemisia asiatica</i>	74.40	33.33

(continued)

(Table 3. Continued)

<i>Aster tataricus</i>	86.15	38.65
<i>Atractylodes japonica</i>	62.25	42.51
<i>Beta vulgaris</i>	7.10	18.88
<i>Brassica oleracea</i>	31.40	47.45
<i>Carthamus tinctorius</i>	7.05	22.62
<i>Cassia tora</i>	83.40	64.21
<i>Chenopodium album</i>	45.45	55.24
<i>Chrysanthemum coronarium</i>	82.90	13.89
<i>Citrullus vulgaris</i>	64.55	17.26
<i>Codonopsis pilosula</i>	42.35	8.28
<i>Coix lachryma-jobi var. Mayuen</i>	71.30	12.04
<i>Cucurbita moschata</i>	8.10	14.08
<i>Epimedium koreanum</i>	73.80	68.72
<i>Erigeron canadensis</i>	44.85	66.16
<i>Euonymus alatas</i>	32.85	43.90
<i>Fagopyrum esculentum</i>	83.30	46.35
<i>Glycine max</i> (black)	87.33	62.61
<i>Glycine max</i> (blue)	86.60	71.76
<i>Ixeris dentata</i>	43.25	53.93
<i>Lactuca raddeana</i>	75.50	54.83
<i>Leonurus sibiricus</i>	51.80	58.82
<i>Lycium chinensis</i>	37.15	60.89
<i>Medicago sativa</i>	10.15	16.52
<i>Mentha arvensis</i>	83.35	62.22
<i>Monochoria vaginalis</i>	4.75	63.71
<i>Morus alba</i>	82.45	43.29
<i>Oenanthe stolonifera</i>	65.50	34.06
<i>Oenothera odorata</i>	83.05	62.79
<i>Oryza sativa</i> (black)	39.97	19.72
<i>Oryza sativa</i> (japonica)	26.50	23.78
<i>Oryza sativa</i> (red)	33.93	29.83
<i>Oryza sativa</i> (waxy)	62.32	29.46
<i>Perilla frutescens</i> (Hara)	70.46	50.92
<i>Perilla frutescens</i> (Kudo)	65.70	54.78
<i>Phaseolus vulgaris</i>	38.08	21.80
<i>Pinus densiflora</i>	39.50	77.92
<i>Pisum sativum</i>	10.20	5.44
<i>Polygonatum japonicum</i>	3.95	10.95
<i>Portulaca oleracea</i>	76.05	21.47
<i>Prunus persica</i>	77.00	67.17
<i>Pueraria thunbergiana</i>	76.70	46.49
<i>Raphanus sativus</i>	76.05	14.01
<i>Rumex japonica</i>	28.25	68.33
<i>Saururus chinensis</i>	73.15	52.91
<i>Solanum melongena</i>	47.20	44.98
<i>Solanum nigrum</i>	43.15	80.60
<i>Taraxacum plarycarpum</i>	69.05	34.14
<i>Taxus baccata</i>	73.95	63.47
<i>Ulmus davidiana</i>	37.70	68.41
<i>Vigna angularis</i>	84.47	42.27
<i>Vigna radiata</i>	35.21	31.37
<i>Vitis vinifera</i>	80.75	68.11
CV(%)	6.58	8.08
LSD(0.05)	7.03	6.61

08%) 까마중 추출액이 80.6%로서 가장 높은 활성을 보였고 솔잎, 푸른콩, 음양곽, 느릅나무, 소루쟁이, 포도, 두릅, 복숭아, 망초, 결명자, 물달개비, 주목, 달맞이꽃, 검정콩, 박하, 지골피, 익모초, 으름덩굴, 명아주, 상추, 자소 추출액 순으로 활성을 나타냈으나 잔대(5.15%), 비트(7.10%), 잇꽃(7.05%), 호박잎(8.10%), 물달개비(4.75%), 등글레(3.95%) 추출액이 TBA법에서 만삼(8.28%), 완두(5.44%) 추출액이 DPPH법에서 10% 미만의 낮은 활성을 보였다. 두릅, 음양곽, 검정콩, 푸른콩, 상추, 박하, 달맞이꽃, 복숭아씨, 주목, 포도씨의 추출액만이 TBA법과 DPPH법에서 동시에 활성이 높은 것으로 나타났다(Table 3과 4). 1차 활성검정 결과에 근거하여 TBA법 73%, DPPH 55%이상의 활성을 보인 22종의 식물체를 선발하여 처리농도에 따른 반응변화를 조사한 결과 처리농도를 증가시킬수록 산화억제율이 증가하는 것으로 나타났으나 추출물에 따라서는 추출물의 농도를 증가시켜도 산화억제율의 증가 폭이 비례하지 않거나 오히려 산화억제율이 감소하는 것도 있었다(Table 4과 5). 이러한 것은 추출물 자체의 특성이거나 또는 용해도가 낮아서 일어나는 현상으로 생각된다. 항산화 작용의 기작에 대해서는 많은 논란이 있으나 활성산소 원자설(reactive oxygen theory)이 가장 대표적인 작용기구로 알려지고 있는데 그 활성을 측정하는 방법도 다양하다. 한편 TBA법과 DPPH법에 있어서 활성값에 차이가 있는데 이는 본 실험에 사용된 활성검정 시료가 순수하게 정제되지 않은 조추출물로서 여기에 존재하는 여러 가지 활성물질들과 TBA법(Wong et al., 1981)과 DPPH법(Yoshida et al., 1989)의 측정방법간의 차이로 생각된다. TBA법 반응의 발색 본체는 과산화지질에서 자동적으로, 또는 산성에서 가열함으로써 생성된 수용성 malondialdehyde(MDA)이고 MDA 한 분자와 TBA 2분자가 축합되어 생기는 적색은 532nm에서 흡광도가 크며 수 시간 동안 안정을 유지했다. 한편 생체조직 내에는 과산화 초기에 생성된 free radical과 반응하는 thiol(SH)화합물 등 많은 nucleophile이 존재하는데 DPPH법은 그 총량이 갖는 항산화력이며 그것을 측정하여 항산화의 진행

Table 4. Antioxidant activity test by TBA method on selected plants from first screening.

Scientific Name	Concentrations (mg/ml)			CV (%)	LSD (0.05)
	1.5	3.0	4.5		
<i>Achyranthes bidentata</i>	60.41	80.32	79.87	4.81	5.66
<i>Aralia elataseemann</i>	60.26	78.69	77.51	5.29	17.64
<i>Artemisia asiatica</i>	52.63	52.85	85.09	0.87	11.05
<i>Aster tataricus</i>	62.26	59.65	76.64	6.42	27.97
<i>Cassia tora</i>	75.22	83.90	86.85	1.73	2.27
<i>Chrysanthemum coronarium</i>	78.11	84.50	83.62	3.12	4.09
<i>Epimedium koreanum</i>	77.73	83.30	77.85	9.80	12.48
<i>Fagopyrum esculentum</i>	58.60	59.77	79.29	2.27	34.01
<i>Glycine max</i> (black)	58.55	75.38	76.68	2.49	2.80
<i>Glycine max</i> (blue)	53.71	65.43	79.95	3.65	3.87
<i>Lactuca raddeana</i>	61.30	65.73	69.14	5.30	5.54
<i>Mentha arvensis</i>	38.84	44.46	74.85	1.52	51.88
<i>Morus alba</i>	79.88	85.14	84.40	1.99	2.64
<i>Oenothera odorata</i>	76.58	83.04	84.92	3.64	4.75
<i>Portulaca olerucea</i>	76.17	86.47	84.56	7.91	10.42
<i>Prunus persica</i>	60.04	66.89	75.18	4.13	15.22
<i>Pueraria thunbergiana</i>	48.84	58.25	77.88	9.00	28.60
<i>Raphanus sativus</i>	60.32	56.30	58.55	8.04	16.85
<i>Saururus chinensis</i>	71.43	71.59	88.71	7.13	8.81
<i>Taxus baccata</i>	66.02	76.22	80.73	1.15	13.25
<i>Vigna angularis</i>	53.78	62.23	81.75	2.06	23.26
<i>Vitis vinifera</i>	56.66	74.49	86.29	3.76	39.14
CV (%)	25.93	6.56	18.54		
LSD (0.05)	23.18	6.96	19.59		

도를 추정하는 것으로 일반적으로 DPPH는 항산화제의 측정에 이용되는 화합물인데 수소기를 붙이면 517nm 에서 특이 색조가 감소되는 특성을 이용한 방법이다.

본 실험에 사용된 60종의 식물 모두가 항산화활성을 가지고 있는 것으로 확인되었는데 이는 일반적으로 식물체가 가지고 있는 천연물중 phenol성 물질 등이 항산화활성을 나타내기 때문으로 생각되며 처리방법에 따라 항산화 효과에 차이가 나는 것은 사용되는 기질에 의한 것으로 생각 되므로 좀 더 세밀한 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다. 추출수율과 활성정도와의 관계는 반드시 일치하지 않는 것 같다. 본 실험에 사용된 추출용매인 80% EtOH은 본 실험에 대한 예비실험의 결과에 근거하여 추출용매로 EtOH를 사용하였으나 추출수율과 활성정도와의 상관관계가 일치하지 않는 것으로 보아서 이는 추출대상 식물이 함유하는 유효성분

의 추출정도와 관계가 있을 것으로 생각된다.

2. SOD법에 의한 활성검정

O₂⁻ (superioxide)를 특이적으로 O₂와 H₂O₂로 불균등분해 (dismutation) 하는 효소에 대한 침 등 25종에 대하여 실험한 결과 SOD활성정도는 검정 식물에 따라 큰 차이가 있었다 (Table 6). 검정콩이 53.5%로서 가장 높은 SOD활성을 나타내었으며, 두릅(47%), 화살나무, 쇠비름 등도 비교적 높은 활성을 보였다. 잔대는 SOD활성정도가 10.37%로서 실험 대상식물 중 가장 낮은 활성을 보였다.

SOD는 금속조효소를 함유하고 있으며 금속조효소에 따라 KCN과 H₂O₂에 대한 검정식물간 반응 특성이 다른 것으로 알려져 있다 (Beyer & Fridovich, 1987). SOD 특이적 활성저해제인 KCN과 H₂O₂를 사용하여 SOD의 검정식물간 특성을 조사하여 SOD활성이 높은 검정콩과 두릅,

Table 5. Antioxidant activity test by DPPH method on selected plant extracts from first screening.

Scientific names	Concentrations (mg/ml)					CV(%)	LSD (0.05)
	1.5	3.0	4.5	6.0	7.5		
<i>Akebia quinata</i>	1.54	4.04	4.04	7.70	41.21	7.03	1.24
<i>Aralia elataseemann</i>	5.90	24.67	34.46	65.93	86.44	4.40	2.88
<i>Cassia tora</i>	7.56	28.27	41.05	81.27	86.58	2.78	2.05
<i>Chenopodium album</i>	2.59	5.45	5.52	8.64	27.39	16.04	2.40
<i>Epimedium koreanum</i>	48.33	44.21	41.72	69.20	85.34	7.42	6.46
<i>Erigeron canadensis</i>	1.78	2.21	5.88	4.12	15.11	35.55	3.12
<i>Glycine max L. (black)</i>	16.51	71.04	68.90	84.38	86.48	16.64	16.42
<i>Glycine max (blue)</i>	13.92	46.28	74.31	75.54	76.90	4.98	4.31
<i>Lactuca raddeana</i>	14.71	2.93	4.63	6.41	20.73	89.16	13.28
<i>Leonurus sibiricus</i>	1.22	1.26	6.18	5.54	11.55	44.10	3.42
<i>Lycium chinensis</i>	7.77	42.86	43.31	78.24	83.19	17.40	13.40
<i>Mentha arvensis</i>	17.61	19.50	22.46	53.32	85.26	17.00	10.15
<i>Monochoria vaginalis</i>	3.37	4.04	6.64	12.95	40.96	16.57	3.39
<i>Oenothera odorata</i>	5.88	21.65	25.96	66.20	76.57	43.82	25.93
<i>Perilla frutescens</i> (Kudo)	3.72	3.88	7.57	14.13	44.13	11.92	2.64
<i>Pinus densiflora</i>	18.95	44.79	51.90	81.98	85.57	5.10	4.27
<i>Prunus persica</i>	4.03	11.49	10.81	56.72	84.31	13.13	6.64
<i>Rumex japonica</i>	8.61	41.38	52.49	84.56	85.53	4.21	3.46
<i>Solanum nigrum</i>	12.24	21.07	24.56	74.74	83.99	3.16	2.06
<i>Taxus baccata</i>	1.39	25.71	27.27	82.03	86.15	4.42	2.97
<i>Ulmus davidiana</i>	14.27	28.46	35.11	83.63	81.99	4.45	3.26
<i>Vitis vinifera</i>	76.15	82.16	89.18	84.25	81.73	7.68	9.58
CV(%)	36.52	19.92	19.21	4.42	13.63		
LSD (0.05)	6.63	7.46	8.36	3.38	12.66		

SOD활성이 낮은 잔대의 SOD 종류를 조사한 결과 검정콩과 두릅은 Cu/ZnSOD, FeSOD을 포함하는데 반하여, 잔대는 Cu/ZnSOD는 포함하고 있으나 FeSOD는 포함하지 않은 것으로 나타났다(Fig. 2). H₂O₂에 모두 저항성을 나타내는 SOD는 존재하지 않았다. 따라서 검정콩과 두릅 SOD에는 분자량이 상대적으로 작은 두개의 Cu/ZnSOD와 분자량이 큰 FeSOD는 존재하나, 잔대에는 FeSOD는 존재하지 않는 것으로 생각되며 H₂O₂에 의한 활성저해 정도는 FeSOD가 Cu/ZnSOD보다 더 낮았고, FeSOD도 최저 1.5 mM H₂O₂에 의해서도 활성이 현저히 억제되었다.

고등식물은 Cu/ZnSOD보다 FeSOD를 함유하고 있는 경우가 드문 것으로 알려져 있으나(Chung et al., 1995), 본 실험의 결과 Cu/ZnSOD와 FeSOD를 가지며 MnSOD는 가지고 있지 않는 점으로 보아 검정식물의 SOD 특성은 십자화과 식물

의 SOD체계와 유사한 것으로 생각되며, 특히 잔대는 Cu/ZnSOD 만을 함유하고 있는 점으로 보아서 고등진핵생물의 SOD체계와 유사한 것으로 생각되었다. 이러한 결과는 잔대가 SOD활성값이 가장 낮은 것과는 관계가 있을 것으로 생각되나 좀더 세밀한 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

SOD활성이 높은 식물 12종에 대한 SOD의 종류를 조사한 결과(Fig. 3.), 실험대상의 모든 품종에서 FeSOD1, FeSOD2, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2가 존재하는 것으로 보아 SOD의 유전적 다양성은 비교적 단순하며 MnSOD와 같은 특이적인 것은 존재하지 않는 것으로 생각되며, 이들 작생식물의 유전적 순도도 높지 않을 것으로 생각된다. 따라서 체계적인 육종에 의한 관리가 이루어지기 전에 중간 유전물질교환이 이루어졌을 가능성이 있다. SOD법과 TBA법, DPPH법간의 상관관계에서는 추출물에 따라 차이는 있으나 일반적으로

Table 6. SOD activity inhibition percentage on several plant extracts.

Scientific names	SOD inhibition (%)
<i>Adenophora verticillata</i>	10.37
<i>Akebia quinata</i>	23.61
<i>Aralia continentalis</i>	30.66
<i>Aralia elataseemann</i>	46.61
<i>Artemisia asiatica</i>	35.80
<i>Atractylodes japonica</i>	25.47
<i>Carthamus tinctorius</i>	29.18
<i>Cassia tora</i>	29.02
<i>Chrysanthemum coronarium</i>	35.37
<i>Codonopsis pilosula</i>	29.69
<i>Coix lachryma-jobi var. mayeun</i>	28.84
<i>Euonymus alatas</i>	39.96
<i>Glycine max</i> (black)	53.45
<i>Leonurus sibiricus</i>	27.46
<i>Lycium chinensis</i>	31.12
<i>Mentha arvensis</i>	17.23
<i>Monochoria vaginalis</i>	22.65
<i>Oenothera odorata</i>	21.02
<i>Polygonatum japonicum</i>	20.82
<i>Portulaca olerucea</i>	36.96
<i>Pueraria thunbergiana</i>	19.41
<i>Rumex japonica</i>	22.17
<i>Saururus chinensis</i>	27.56
<i>Taraxacum plarycarpum</i>	32.06
<i>Ulmus davidiana</i>	13.36
<i>Vitis vinifera</i>	26.76
CV(%)	34.77
LSD(0.05)	16.14

정의 상관관계 ($r=0.7860$, $r=0.7362$)를 보여 SOD 활성정도가 높은 경우 항산화활성이 높다는 것으로 생각되나 두 처리의 방법간에도 유의성이 인정되어 황산화 활성정도를 평가 할때 첨가제 처리에 주의가 요망된다. SOD가 각종 생리장애에 대한 내성의 생화학적 토대를 제공하고 있음이 입증되고 있으므로 내재해성 품종육성을 위한 연구의 일환으로 유전자원에 대한 SOD, Catalase, Peroxidase 등 내재해관련 효소와 세포수준에서의 항산화 활성평가 및 항산화 성분을 추출, 정제하여 천연항산화제 및 의약품으로의 이용 가능성에 대한 더욱 상세한 연구가 요망된다.

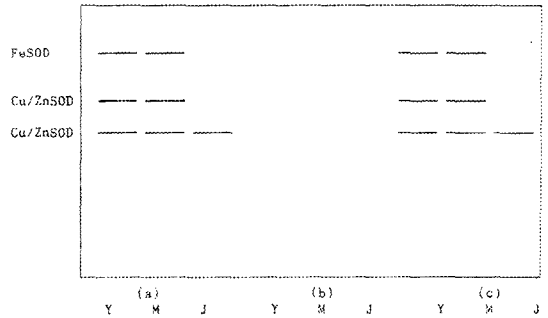


Fig. 2. SODs characteristics of black *Glycine max*(Y), *Aralia elataseemann*(M), and *Adenophora verticillata*(J) leaves extracts. Gels were incubated in the SOD activity staining solutions containing either 2 mM KCN (a) or 1.5 mM H₂O₂ (b) and without the inhibitors (c). Each samples (50ug) or total protein were electrophoresed in nondenaturation polyacrylamide gels. Acrylamide concentrations of the stacking and separating gels were 5 and 15%, respectively.

적 요

60種의 자생약용식물과 식용작물을 대상으로 항산화활성의 생리활성을 조사함으로써 약용식물과 식용작물의 유용성 측면의 확인뿐만 아니라 새로운 생리활성물질 탐색의 가능성을 검토하기 위해서 실시한 실험결과는 다음과 같다.

자생약용식물 및 식용작물에 대한 80% EtOH 추출물을 이용하여 TBA법, DPPH법에 의하여 1차 활성검정 결과 처리방법에 따라 활성값에 차이가 있으나 TBA법에서는 검정용의 추출액이 87.3%, DPPH법에서는 까마중 추출액이 80.6%로서 가장 높은 활성을 보였고 두가지 방법에서 동시에 활성이 높은 것은 검정용을 비롯하여 10종 이었다. SOD활성정도도 검정식물에 따라 큰 차이가 있으나 검정용이 53.5%로서 가장 높은 SOD활성을 나타내었으며 SOD종류는 Cu/ZnSOD, FeSOD을 포

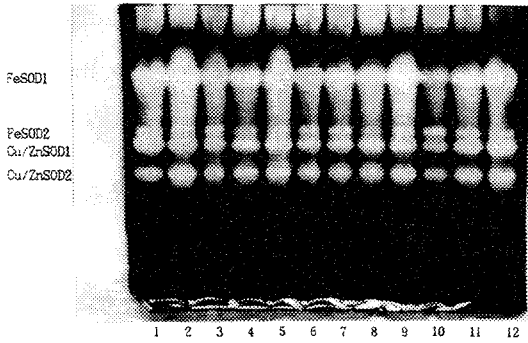


Fig. 3. SODs of several plants. Total protein samples (50 ug) of plant extracts were separated in nondenaturing polyacrylamide gels and SOD activity was stained by incubating the gel in the staining solutions and illuminating the gel under the light source as indicated in Material and Methods. Acrylamide concentration of the separating gel was 10%. Plants were 1; *Aralia continentalis*, 2; *Aralia elataseemann*, 3; *Artemisia asiatica*, 4; *Carthamus tinctorius*, 5; *Cassia tora*, 6; *Chrysanthemum coronarium*, 7; *Codonopsis pilosula*, 8; *Euonymus alatas*, 9; *Glycine max* (black), 10; *Lycium chinensis*, 11; *Portulaca olerucea*, 12; *Taraxacum plarycarpum*.

함하는 것으로 나타났다. Cu/ZnSOD만을 함유하고 있는 잔대는 SOD활성정도가 10.37%로서 실험 대상식물 중 가장 낮은 활성을 보였다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 핵심전문연구비(961-0602-017-2) 지원으로 수행된 연구의 일부임.

LITERATURE CITED

Asada, K., M. Takahashi, and M. Nagate. 1974. Assay and inhibitors of spinach superoxide

- dismutase. *Agr. Biol. Chem.* 38 : 471 - 473.
- Beyer, W. F., Jr. and I. Fridovich. 1987. Assaying for superoxide dismutase activity : some arge consequences of minor changes in conditions. *Anal. Biochem.* 161 : 559 - 566.
- Bidlack, W. R. and A. L. Tapper. 1973. *Lipids* 8 : 177.
- Bollag, D. M. and S. J. Edelstein. 1991. *Protein Methods*, Wiley-Liss, New York.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteindye binding. *Anal. Biochem.* 72 : 248 - 254.
- Chance, B., H. Sies and A. Boveris. 1979. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev.* 59 : 527 - 547.
- Chung, I. M., S. J. Yun, J. T. Kim, J. G. Gwag, J. D. Sung and H. S. Suh. 1995. Test of superoxide dismutase characteristics and antioxidant activity in perilla leaves. *Korean J. Crop Science.* 40(4) : 504 - 511.
- Hammond, B., A. Kontos, and M. L. Hess. 1985. Oxygen radicals in the adult respiratory distress syndrome, in myocardial ischemia and reperfusion injury, and in cerebral vascular damage. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 63 : 173 - 187.
- SAS Institute. 1985. *SAS User's Guide; Basics*. 5th ed. SAS Institute, Cary, NC.
- Simic, M. G. and M. Karel. 1980. Autooxidation in food and biological systems : Natural antioxidants. *Plenum Press*, NY. 261 - 282.
- Wong, S. F., B. Holliwel, R. Richimond and W. R. Skowroneck. 1981. The role of superoxide and hydroxyl radicals in the degradation of hyaluronic acid induced by metal ions and ascorbic acid. *J. Inorganic Biochemistry.* 14 : 127 - 134.
- Yoshida, T., K. Mori, T. Hatano, T. Okumura, I. Uehara, K. Komagoe, Y. Fujita and T. Okuda. 1989. Studies on inhibition mechanism of autooxidation by tannins and flavonoids. V. Radical scavenging effects of tannins and related polyphenols

- on 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. Chem. Pharm. Bull. 37(7) : 1919-1923.
- 김찬길, 김만옥, 손현주, 위재준, 허정남. 1990. 고려인삼의 활성성분 분리 및 각국삼 비교. 한국인삼연초연구소, 인삼연구보고서(효능분야).
- 157-195.
- 이정일, 이승택, 성낙술, 박래경. 1991. 국내약용식물 연구현황과 금후연구방향: 개방화에 대응한 약용식물의 안정생산과 연구방향 심포지움: 6-23.